

Gaceta de Ciencias Veterinarias Vol 20 N° 1 pp 23-32 Julio 2015.

Artículo de revisión

Metabolismo espermático

Sperm Metabolism

Flores Celeste¹, Vilanova Lourdes¹

¹Unidad de Investigación en Ciencias Funcionales Dr. Haity Moussatché (UNIHM) del Decanato de Ciencias Veterinarias, Universidad Centroccidental “Lisandro Alvarado” (UCLA), Barquisimeto (Lara, Venezuela). Teléfono 0251-2592630.

E-mail: caf06@hotmail.com.

Resumen

El espermatozoide es una célula altamente especializada y su actividad metabólica varía de acuerdo a diferentes etapas de la vida del gameto cual está determinada por señales del medio que lo rodea con el fin de lograr la fecundación. El espermatozoide requiere de un metabolismo energético que genere suficiente energía libre para movilidad flagelar, que ocurre de manera más eficiente en condiciones aeróbicas, principalmente por fosforilación oxidativa a nivel de las mitocondrias que se encuentran en la pieza intermedia del flagelo; sin embargo, esto no es suficiente para alcanzar la hiperactividad del movimiento flagelar durante la capacitación, por lo que la pieza principal posee toda la maquinaria enzimática para generar ATP a partir de la glicólisis, la cual es fundamental para el proceso de fecundación.

Palabras clave: espermatozoide, metabolismo, glicolisis, fosforilación oxidativa.

Abstract

The sperm is a highly specialized cell and their metabolic activity varies according to different stages of the life of the sperm which is determined by signals from the environment that surrounds them in order to achieve fertilization. Sperm requires an energy metabolism to generate enough free energy for mobility flagellar, which occurs most efficiently in aerobic conditions, mainly due to oxidative phosphorylation, mitochondria which are found in the part-level intermediate of the scourge, however, this is not enough to achieve the hyperactivity of the movement flagellar during training, so the main piece has all the enzymatic machinery to generate ATP from glycolysis which is fundamental to the process of fertilization.

Key words: sperm metabolism, glycolysis, oxidative phosphorylation.

Recibido: 12-05-2015.

Aceptado: 19-07-2015.

INTRODUCCIÓN

El espermatozoide es una célula altamente especializada, que presenta diferencias con las células somáticas en cuanto a su morfología, composición de membranas (proporción de los distintos tipos de fosfolípidos o de ácidos grasos poliinsaturados), mecanismos de regulación del calcio intracelular y vías de señalización celular [1]. Además, su actividad metabólica varía en las diferentes etapas de la vida del espermatozoide de acuerdo a señales del medio que los rodea, con el fin de lograr la fecundación.

ESTRUCTURA DEL ESPERMATOZOIDE.

El espermatozoide presenta dos áreas bien definidas, la cabeza y el flagelo; a nivel de la cabeza se encuentra el núcleo con la cromatina altamente condensada y el acrosoma formado a partir del aparato de Golgi, el cual está ubicado en la región apical de la cabeza y tiene forma de capucha sobre el segmento anterior del núcleo [2]. El acrosoma determina que en la superficie cefálica existan dos regiones, la región acrosomal (RA) y postacrosomal (RP), separadas ambas por una fina banda de transición de la membrana plasmática denominada segmento ecuatorial (SE) [3].

El flagelo presenta el axonema que está constituido por dos pares de microtúbulos centrales y 9 pares periféricos, estos últimos asociados a la dineína (proteína contráctil) con actividad ATPasa que convierte la energía química en energía mecánica [4]. El flagelo morfológicamente se divide en 4 partes: la pieza de conexión (PC), la pieza intermedia (PI), la pieza principal (PP) y la pieza terminal (PT) (ver figura 1).

El axonema forma parte de la estructura de la PC y PI, el cual se encuentra rodeado por 9 fibras densas que están rodeadas por una capa de mitocondrias en forma de espiral y finalmente la membrana plasmática [5]. En el caso de PP a diferencia de la PC y PI carece de mitocondrias y la PT solo presenta el

axonema rodeado por la membrana plasmática [3].

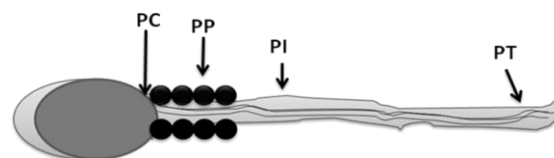


Figura 1.- Diagrama de vista longitudinal de espermatozoide.

El espermatozoide requiere de un metabolismo energético que genere suficiente energía libre para movilidad flagelar, que ocurre de manera más eficiente en condiciones aeróbicas [6], principalmente por fosforilación oxidativa a nivel de las mitocondrias presentes en la PI del flagelo. En la PP la fuente de ATP es a partir de la glicólisis [7]. La fosforilación oxidativa produce mayor cantidad de ATP por molécula de glucosa; sin embargo, los espermatozoides de diferentes especies muestran variaciones en cuanto a la dependencia en el metabolismo mitocondrial [8]. Tal es el caso del espermatozoide de los bovinos que requieren del metabolismo mitocondrial para obtener movilidad [9], mientras que los espermatozoides de la mayoría de las especies dependen de la glicólisis para desarrollar el movimiento espermático [10].

Para ejercer el movimiento flagelar, la dineína del axonema requiere grandes cantidades de ATP; sin embargo, las mitocondrias están limitadas a la pieza intermedia y el ATP mitocondrial no es suficiente para difundir a lo largo de todo el flagelo [7]. La glicólisis, con producción de lactato (en condiciones aeróbicas) es la fuente de ATP en la pieza principal para el movimiento flagelar facilitado por la incorporación de enzimas glucolíticas (hexoquinasa, lactato deshidrogenasa y gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa) en la banda fibrosa de la pieza principal [11].

En presencia de oxígeno, los espermatozoides recurren a la activación del ciclo de Krebs con la formación del NADH⁺ a partir de la transformación del malato a oxalacetato, éste último estimula la enzima

piruvato deshidrogenasa para disminuir las concentraciones de piruvato y promover la fosforilación oxidativa que, junto con la lactato deshidrogenasa a nivel mitocondrial, mantienen los niveles de NAD^+ para ser utilizado por el malato [12]. Además, el NADH^+ pasa rápidamente a la cadena respiratoria y de esta manera se evita el agotamiento del NAD^+ (ver Figura 2) [13].

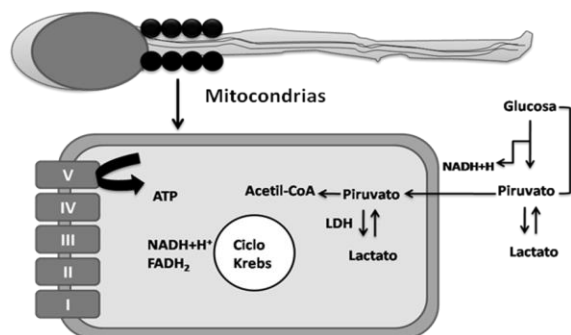


Figura 2. Diagrama de Compartimiento subcelular de la fosforilación oxidativa y glicolisis en el espermatozoide.

Sin embargo, los requerimientos energéticos del espermatozoide van a depender del estado fisiológico en el que se encuentre, lo cual está relacionado con su ubicación anatómica, bien sea en el tracto genital masculino o femenino. Por tales motivos, en esta revisión se estudiará la actividad metabólica del espermatozoide a nivel del epidídimo (reposo) y cuando ejerce el movimiento espermático, recordando que en el caso de los espermatozoides de mamíferos presentan diferencias en la expresión del movimiento, cuando han sido eyaculados (motilidad progresiva) e hiperactivación cuando se ha establecido la capacitación espermática en el oviducto [14]. Se ha demostrado que el sustrato glucolítico juega un papel significativo en la capacitación espermática, donde la fructosa genera movilidad progresiva, mientras que la glucosa hiperactiva [15].

METABOLISMO DE LOS ESPERMATOZOIDES EN EL EPIDÍDIMO

Los espermatozoides recién liberados del epitelio seminífero no son capaces de expresar motilidad progresiva ni de fecundar, estas habilidades son desarrolladas durante el proceso de maduración que ocurre en el epidídimo, el cual aporta secreciones y el tiempo necesario para que el espermatozoide inmaduro que abandona el testículo se convierta en una célula madura con capacidad de fecundar al ovocito [16].

La gota citoplasmática (GC) es considerada como un orgánulo transitorio, mayoritariamente presente en los espermatozoides epididimarios y es necesaria para la obtención de la maduración espermática. El 68% de las proteínas presentes en la GC [17] son enzimas específicas implicadas en el metabolismo energético [18]. La función aparentemente de la GC es activar a las mitocondrias y ubicar las enzimas en la vaina fibrosa del flagelo durante la adquisición de la maduración espermática en el epidídimo, elemento importante para la movilidad espermática durante su trayecto en el sistema genital de la hembra [17].

El epidídimo es responsable de absorber hasta un 75% del fluido testicular y reducir el pH en 0,5 [19], los procesos de resorción de agua que tienen lugar en el epidídimo, permiten que el espermatozoide pueda interactuar con las diferentes secreciones circundantes, entre ellas proteínas producidas por las células de Sertoli (transferrina, ceruloplasmina, ciertos factores de crecimiento, etc) que no se degradan por enzimas proteolíticas en el lumen epididimal y que no atraviesan las células epiteliales [20]. El fluido epididimario a nivel de la cola es rico en aminoácidos, glicerilfosforilcolina y glicoproteínas y sobre todo en carnitina [21]. Jones y col. [22] por su parte mencionan que a nivel del epidídimo existe una gran variedad de sustratos metabólicos (lípidos, glucosa, lactato y glicerol) aprovechables por el espermatozoide. Sin embargo, existen mecanismos de autorregulación como baja tensión de oxígeno, baja presión osmótica y

reducida concentración extracelular de H^+ , Ca^{2+} , Na^+ y HCO_3^- que tienen un efecto supresor sobre el metabolismo y la motilidad del espermatozoide y que además lo mantienen en estado de reposo durante el almacenamiento espermático a nivel de la cola del epidídimo [19, 23]. Estas condiciones son propicias para que la producción de ATP durante la maduración del epidídimo surja de la glucólisis de tipo anaeróbica [24], permitiendo de esta manera la sobrevivencia de los espermatozoides almacenados en la cola del epidídimo [25]. La producción de lactato mediante la enzima lactato deshidrogenasa (LDH) ocurre en un 90% a nivel de la pieza principal y en 2-6% en la mitocondrias que están en la pieza intermedia [26]. El lactato producido ayuda a mantener un pH ácido dentro del espermatozoide que evita la activación metabólica [9]; además, la glucógeno sintasa quinasa 3 (GSK-3), en esta etapa se encuentra desfosforilada, por lo que se inicia la síntesis de glucógeno como reserva energética [27].

METABOLISMO DE ESPERMATOZOIDES EN EL EYACULADO

El eyaculado en los humanos es una combinación de secreciones de diferentes órganos y glándulas, un 10% del epidídimo y glándulas bulbouretrales, 60% de las vesículas seminales, 30% prostático y 10% lo constituyen los espermatozoides [28]. En cuanto a la constitución química, el líquido seminal contiene ácido ascórbico (8 a 12 mg/dl), ácido cítrico (350 a 600 mg/dl), fructosa (200 a 400 mg/dl), glicerilfosforilcolina (15 a 45 mg/dl), potasio, bicarbonato, fosfatos, zinc, magnesio, prolactina, insulina, prostaglandinas E. Ésta última, se estima que tiene efecto en el moco cervical y favorece el transporte del espermatozoide en el aparato reproductor de la hembra. Además, el líquido seminal presenta grandes cantidades de colesterol y fosfolípidos de origen prostático que se requieren para la estabilidad de la membrana plasmática del espermatozoide y evitar la capacitación espermática precoz [28, 29].

El líquido seminal le brinda a los espermatozoides medio de transporte durante la eyaculación y protección en el ambiente vaginal. La actividad espermática en el eyaculado se encuentra reducida, debido a que el líquido seminal presenta factores inhibidores que impiden la capacitación y la reacción acrosómica [30]. Sin embargo, el estado de inmovilidad termina cuando los espermatozoides son liberados en el líquido seminal en el momento de la eyaculación y pasan a ser totalmente móviles y metabólicamente activos [31], facilitado por el pH (7,2 –7,8) [30] y alta tensión de oxígeno del líquido seminal [31].

En el eyaculado el sustrato energético utilizado por los espermatozoides es la fructosa y activa débilmente a la hexoquinasa; este evento permite inferir que la fructosa entra a la glucólisis por otra vía (aldolasa de fructosa fosfato) [32] y genera cantidades de ATP necesarias para la motilidad progresiva del espermatozoide por períodos largos sin causar la hiperactivación espermática, al igual que el piruvato y el lactato [15].

El movimiento flagelar se inicia por aumento de los niveles de bicarbonato presente en el eyaculado, que ingresa al interior del espermatozoide, causando un aumento en el pH intracelular, lo que a su vez estimula a la Adenil Ciclasa soluble (ACs) para la producción de AMPc [33]. El aumento de este segundo mensajero inicia y mantiene la movilidad del espermatozoide y promueve la fosforilación de proteínas en los residuos de tirosina, ubicados en su mayoría en la porción fibrosa de la pieza principal del flagelo, como la AKAP y PKA, regulado por fosfatasa 2B (calcineurina) dependientes de calmodulina [34] y la fosfodiesterasa [35].

METABOLISMO ESPERMÁTICO DURANTE LA CAPACITACIÓN

Los espermatozoides no se consideran funcionalmente maduros hasta que hayan permanecido un tiempo en el tracto reproductor de la hembra. Durante este

tiempo, los espermatozoides se someten a una serie de cambios bioquímicos [36], denominados colectivamente como capacitación espermática [15] y de esta manera poder alcanzar la hipermovilidad y reacción acrosómica con el propósito de obtener la capacidad fecundante.

En las etapas iniciales de la capacitación existe una salida de colesterol de la membrana plasmática del espermatozoides de los mamíferos, esto ocurre durante el estro de la hembra, por aumento de la concentración de lipoproteínas de alta densidad que sirven como un posible aceptor del colesterol [37].

La remodelación de lípidos, con una disminución del colesterol origina inestabilidad en la membrana, que facilita la entrada de bicarbonato a nivel intracelular mediante un cotransporte de sodio/bicarbonato [33, 38, 39]. Además ocurre activación de un intercambiador Na^+/H^+ que disminuye la concentración de protones e incremento de Na^+ a nivel intracelular; ambos eventos, causan aumento del pH intracelular y del potencial de membrana [40] permitiendo la apertura de canales de calcio voltaje-dependientes para aumentar las concentraciones de calcio en el espermatozoide [41] que inician la corriente de K^+ ($I_{\text{K}^{\text{Sper}}}$) por canales específicos en el espermatozoide (Slo3), para propiciar la repolarización de la membrana [42, 43].

El aumento del pH y del calcio intracelular promueven la activación de la adenilato ciclasa soluble (AC_s) [43, 41], aumentando el AMPc como segundo mensajero e iniciándose de esta manera la cascada de señalización celular mediante la fosforilación de la protein quinasa A (PKA) [41] para realizar modificaciones post-traduccionales de fosforilación de proteínas quinasas (PKs) en los residuos serina / treonina (Ser / Thr) y / o tirosina (Tyr) [44].

A medida que el proceso de capacitación prosigue, ocurre disminución de los niveles de cAMP, sin embargo la fosforilación inducida por PKA se mantiene [35]. Este evento se ha relacionado con aumento en la producción de peróxido de hidrogeno en los

espermatozoides capacitados [45], debido a que los radicales libres (RL) causan disminución en la actividad de las fosfatasas (PP1, PP2A y PP2B) el cual es necesario para el éxito de la capacitación en el espermatozoide humano [35].

Los espermatozoides de los mamíferos deben ser móviles por un largo período de tiempo, desde que son eyaculados hasta que, una vez capacitados se encuentren con el ovocito en la ampolla tubárica. Se ha determinado que la glicolisis es capaz de mantener la movilidad espermática vigorosa, no así la fosforilación oxidativa, a pesar de que ambas producen suficientes cantidades de ATP, lo que pudiera estar relacionado con la distribución de las enzimas glicolíticas a lo largo del flagelo [10].

El receptor para el Factor Estimulador de Colonias de Granulocitos y Macrófagos (rGM-CSF) se ha identificado en espermatozoides bovinos capacitados, ubicándose a nivel del acrosoma (segmento ecuatorial) y en la flagelo [46]. Además, se ha demostrado la asociación del rGM-CSF con la translocación de transportadores de glucosa (GLUT 3) [47]; y la adición de GM-CSF al eyaculado de bovinos aumenta algunos parámetros de la motilidad espermática [46], lo que pudiera estar relacionado con aumento de la producción de ATP por la vía glucolítica.

En los espermatozoides de cerdos y humanos se ha encontrado en la región subacrosómica y en la PI el receptor proliferador de Peroxisoma gamma ($\text{PPAR}\gamma$), el cual es un receptor nuclear sensible a hormonas que al ser activado aumenta la movilidad y la fosforilación de proteínas (Akt/ PI3K y MAPK) en el espermatozoide [48]. Los receptores $\text{PPA}\gamma$ estimulados por las prostaglandinas [49, 50] que se encuentran en el moco cervical o producidas por el espermatozoide a nivel metabólico causa incremento en la lipólisis y β oxidación [48] lo que sugiere un aumento en la producción de ATP para ser utilizado en el proceso de capacitación espermática [51]. Por otro lado, el $\text{PPA}\gamma$ aumenta la actividad de la glucosa-6 fosfato deshidrogenasa

(G6PDH) [48] (Santoro y col, 2013) del ciclo de la pentosa fosfato (PPP), lo cual aporta gran cantidad de NADPH [52] que junto con el glutatión, al ser importantes reductores, evitan el incremento de radicales libres que pudieran causar daño e incluso la muerte del espermatozoide [53].

Una vez que los espermatozoides han sido capacitados y se encuentran frente al ovocito, se establece la reacción acrosómica (RA), que es un proceso de exocitosis regulada y se ha propuesto que la esfingosina 1-fosfato (S1P) interactúa con un receptor acoplado a proteína G que induce la RA causando un aumento de calcio por la vía de IP_3 y activación de PLC, PKC y Rab3A en espermatozoides humanos [54]. El incremento en las concentraciones de calcio activa la fosfatasa calineurina que desfosforila la sinaptotagmina (syt) VI [55] y desplaza la complexina permitiendo la formación del complejo completo y desencadena la fusión de las membranas en diferentes puntos del acrosoma [56].

Durante la fase preovulatoria los espermatozoides pueden ser almacenados en el oviducto, mediante la unión de la cabeza del espermatozoide a las microvellosidades y/o cilios de las células que recubren el istmo del oviducto con el propósito de ser liberados en el momento de la ovulación [57].

Este proceso es facilitado por la presencia del moco oviductal y en particular, glucoproteínas y polipéptidos que son los mediadores para la formación del reservorio de espermatozoides en mamíferos [6]. En esta etapa los espermatozoides no son plenamente capacitados por presentar bajas concentración de calcio y de fosforilación de los residuos de tirosina, lo que causa pérdida de la movilidad, debido a disminución de la actividad glicolítica [58]. Sin embargo, la adhesión a la mucosa pudiera desencadenar señales que propicien la disminución de la movilidad del espermatozoide y de esta manera aumenta las concentraciones de ATP con disminución de ADP y AMP, lo que reducirá la actividad de AK [6]. En esta etapa pudiera estar involucrada la enzima fosfofructo kinasa (PFK) que es un punto de

control importante en la glicólisis del espermatozoide [59, 60] donde las concentraciones adecuadas de ATP, citrato y H^+ tienen efectos inhibidores mientras es activada por cantidades elevadas de AMP, P_i o fructosa 2-6 bifosfato [6].

CONCLUSIÓN

El espermatozoide es una célula altamente especializada y su estado metabólico está determinado por diferentes señales del medio en el que se encuentra, con el propósito de activar mecanismos de señalización celular encargados de garantizar una función espermática adecuada y de esta manera el espermatozoide tenga capacidad fecundante.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Roldan E. Forma, función y fertilidad de los espermatozoides. Grupo de Ecología y Biología de la Reproducción, Museo Nacional de Ciencias Naturales (CSIC). 2012. http://www.sebbm.es/archivos_tinymce/2012_eduardoroldan.pdf. recuperado: 07-07-2014.
- [2] Del Río M, Godoy A, Toro A, Orellana R, Cortés M, Moreno R, Vigil P. La reacción acrosómica del espermatozoide: avances recientes. *Rev Int Androl*. 2007; 5(4):368-373.
- [3] Gómez-Torres M., Girela, J. La, Fernández-Colom P, Romeu AB, De Juan J. Estudio de las alteraciones morfológicas de espermatozoides humanos con microscopia electrónica de barrido (SEM). *Rev Iberoamer Fertil* 2005; 22(1):59-66.
- [4] Lodish H, Berk A, Matsudaira P, Kaiser C, Krieger M, Scott M, Zipursky L, Darnell J. *Biología Celular y Molecular*. Quinta edición pp 79-80.
- [5] Mortimer S. A critical review of the physiological importance and analysis of sperm movement in mammals. *Hum Reprod Update*. 1997; 3(5):403-439.

[6] Kamp G, Schmidt H, Stypa H, Feiden S, Mahling C, Wegener G. Regulatory properties of 6-phosphofructokinase and control of glycolysis in boar spermatozoa. *Reproduction* 2007; 133: 29-40.

[7] Turner, R. M. Moving to the beat: a review of mammalian sperm motility regulation. *Reprod Fertil Dev* 2006; 18:25–38.

[8] Van C, Hutson S, Lardy H. Pyruvate metabolism in bovine epididymal spermatozoa. *J Biol Chem* 1977; 252:1303-1308.

[9] Storey B. Mammalian sperm metabolism: oxygen and sugar, friend and foe. *Int. J Dev Biol* 2008; 52: 427-437.

[10] Mukai C, Okuno M. Glycolysis plays a major role for adenosine triphosphate supplementation in mouse sperm flagellar movement. *Biol Reprod* 2004; 71: 540-547.

[11] Narisawa S, Hecht N, Goldberg E, Boatright K, Reed J, Millán J. Testis-specific cytochrome c-Null mice produce functional sperm but undergo early testicular atrophy. *Mol Cell Biol* 2002; 22 (15): 5554-5562.

[12] Storey B, Kayne F. Energy metabolism of spermatozoa. VI. Direct intramitochondrial lactate oxidation by rabbit sperm mitochondria. *Biol Reprod* 1977; 16: 549-556.

[13] Ferramosca A, Vincenzo Z. Bioenergetics of Mammalian Sperm Capacitation. *BioMed Res International* 2014; 1: ID 902953, <http://dx.doi.org/10.1155/2014/902953>

[14] Suarez S, Ho, H. Hyperactivation of mammalian sperm. *Cell Mol Biol* 2003; 49, 351–356.

[15] Goodson S, Qiu Y, Sutton K, Xie G, Jia W, O'Brien D. Metabolic Substrates Exhibit Differential Effects on Functional

Parameters of Mouse Sperm Capacitation. *Biol Reprod* 2012; 87(3):75, 1-15.

[16] Rodríguez Tr, Arenas-Ríos E, León-Galván M. El almacenamiento prolongado de espermatozoides en el epidídimo, adaptación que permite sincronizar el periodo de apareamientos en murciélagos. *Contactos*. 2010; 78: 58-64

[17] Yuan S, Zheng H, Zheng Z, Yan W. Proteomic Analyses Reveal a Role of Cytoplasmic Droplets as an Energy Source during Epididymal Sperm Maturation. *PLOS ONE*. 2013; 8 (10)-e77466. doi:10.1371/journal.pone.0077466

[18] McCarrey J, Thomas K. Human testis-specific PGK gene lacks introns and possesses characteristics of a processed gene. *Nature*. 1987; 326(6112):501-505.

[19] Levine N and Marsh D. Micropuncture studies of the electrochemical aspects of fluid and electrolyte transport in individual seminiferous tubules, the epididymis and the vas deferens in rats. *J Physiol* 1971; 213: 557-570.

[20] Regalado F. Proteínas de secreción del epidídimo de conejo caracterización y regulación por andrógenos y temperatura. Tesis Doctoral. Madrid. Universidad Complutense de Madrid Departamento de Biología Molecular. 1992.

[21] Barrios D. Evaluación de la Calidad y capacidad fecundante de espermatozoides de la cola del epidídimo de toros post-mortem. XI congreso venezolano de producción e industria animal. 2002. Octubre 26; Valera, Venezuela

[22] Jones R, Murdoch R. Regulation of the motility and metabolism of spermatozoa for storage in the epididymis of eutherian and marsupial mammals. *Reprod Fertil Dev* 1996; 8(4) 553-568.

[23] Breton S, Smith P, Brown D. Acidification of the malereproductive tract by

a proton pumping (H⁺)-ATPase. *Nature medicine*. 1996; (2): 470-472.

[24] Storey B, Kayne F. Energy metabolism of spermatozoa. V. The Embden-Myerhof pathway of glycolysis: activities of pathway enzymes in hypotonically treated rabbit epididymal spermatozoa. *Fertil Steril* 1975; 26(12):1257-1265.

[25] Beu C, Orsi A, Domeniconi R, Novelli E. Localization of total proteins and lactate dehydrogenase in hamster epididymis *Int J Morphol*, 2007; 25(2):259-264.

[26] Storey B, Kayne F. Energy metabolism of spermatozoa. VI. Interactions between lactate, pyruvate and malate as oxidative substrates for rabbit sperm mitochondria. *Biol Reprod* 1978; 18:527-536.

[27] Somanath P, Jack S, Vijayaraghavan S. Changes in sperm glycogen synthase kinase-3 serine phosphorylation and activity accompany motility initiation and stimulation. *J Androl*. 2004 ;25(4):605-617.

[28] Vásquez F, Vásquez D. Espermograma y su utilidad clínica. *Salud Uninorte* 2007; 23 (2): 220-230.

[29] Campbell-Walsh. *Urology*. Novena edición. Edit Panamericana, España-Madrid. 2007. pp 2618-2617.

[30] Hall J. *Tratado de Fisiología Médica: Capítulo 80 Funciones reproductoras y hormonales masculinas*. Décima segunda edición, 2011. España. Edit Elsevier.

[31] De Pauw I. Bovine semen preservation under epididymal conditions and assessment of sperm quality by means of a sperm-oviduct binding assay. Tesis Doctoral. Faculteit Diergeneeskunde. Vakgroep Voortplanting, Verloskunde en Bedrijfsdiergeneeskunde. 2003.

[32] Madrano A. Estudio del metabolismo energético de los espermatozoides porcinos y su repercusión en el diseño de diluyentes optimizados para la conservación de semen

refrigerado. Tesis doctoral. Facultad de Veterinaria-Universidad Autónoma de Barcelona-España. 2005.

[33] Wennemuth G, Carlson A, Harper A, Babcock D. Bicarbonate actions on flagellar and Ca²⁺-channel responses: initial events in sperm activation. *Development* 2003; 130(7): 1317-1326.

[34] Carrera A, Moos J, Ping N, Gerton G, Tesarik J, Kopf G, Moss S. Regulation of protein tyrosine phosphorylation in human sperm by a calcium/calmodulin-dependent mechanism: Identification of a kinase anchor proteins as major substrates for tyrosine phosphorylation. *Dev Biol* 1996; 180: 284-296.

[35] Battistone M, Da Ros V, Salicioni A, Navarrete F, Krapf D, Visconti P, Cuasnicu P. Functional human sperm capacitation requires both bicarbonate-dependent PKA activation and down-regulation of Ser/Thr phosphatases by Src family kinases. *Mol Hum Reprod*. 2013; 19(9): 570-580.

[36] Westbrook V, Chertihin O, Demarco I, Sleight S, Diekman A. Novel signaling pathways involved in sperm acquisition of fertilizing capacity. *J Reprod Immunol*. 2002; 53:133-150.

[37] Anzaldúa S, Pérez M, Cerbón M, Camacho-Arroyo I. Actividad secretora del oviducto de mamíferos domésticos durante la fertilización y el desarrollo embrionario temprano. *Cs Vet* 2003; 9:229-267.

[38] Ciancio M, Orlowski A, Lembo J, Aiello E. La asociación funcional de la adenilato ciclasa soluble (sAC) y el cotransportador sodio/bicarbonato (NBC) conforma una simbiosis reguladora de la contractilidad basal cardíaca. *Jornadas de Medicina* 2012. Facultad de Ciencias Médicas: La Plata, Argentina.

[39] Ying L, Deng-Ke W, Li-Ming C. The physiology of bicarbonate transporters in mammalian reproduction. *Biol Reprod* 2012; 86(4):99, 1-13.

[40] Wang D, Hu J, Bobulescu A, Quill T, McLeroy P, Moe O, Garbers D. A sperm-specific Na⁺/H⁺ exchanger (sNHE) is critical for expression and in vivo bicarbonate regulation of the soluble adenylyl cyclase (sAC). *PNAS* 2007; 104(22):9325-9330.

[41] Carlson A, Quill T, Westenbroek R, Schuh S, Hille B, Babcock D. Identical phenotypes of CatSper1 and CatSper2 Null Sperm. *J Biol Chem* 2005; 280: 3238-3244.

[42] Brenker C, Zhou Y, Müller A, Echeverry F, Trötschel C, Poetsch A, Xia X, Bönigk W, Lingle C, Kaupp B, Strücker T. The Ca²⁺-activated K⁺ current of human sperm is mediated by Slo3. *eLife* 2014; 3. <http://dx.doi.org/10.7554/eLife.01438.001>

[43] Xu-Hui Z, Chengtao Y, Tae K, C Lingle C, Xiao-Ming X. Deletion of the Slo3 gene abolishes alkalization-activated K⁺ current in mouse spermatozoa. *PNAS*; 2011; 108(14): 5879-5884.

[44] Signorelli J, Díaz E, Fara K, Barón L, Morales P. Protein phosphatases decrease their activity during capacitation: A new requirement for this event, *PLOS ONE* 2013; 8(12): e81286.

[45] Aitken R, Harkiss D, Knox W, Paterson M, Irvine D. A novel signal transduction cascade in capacitating human spermatozoa characterized by a redox-regulated, cAMP-mediated induction of tyrosine phosphorylation. *J Cell Sci* 1998; 111: 645-656.

[46] Vilanova L, Rauch T, Zambrano C, Brito M, Werner E, Concha I. Caracterización funcional y localización del receptor GM-CSF en espermatozoides bovinos. *Arch Med Vet*. 2003; 35(2): 139-150.

[47] Ocampo M. Localización de transportador de glucosa GLUT 3 y el receptor GM-CSF en estructuras tipo caveolas. Tesis de Licenciatura en Bioquímica. Instituto de Bioquímica Facultad de Ciencias. Valdivia-Chile. 2004.

<http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2004/fco.15l/pdf/fco.15l.pdf>.

[48] Santoro M, Guido C, De Amicis F, Sisci D, Vizza D, Gervasi S, Carpino A, Aquila S. Sperm metabolism in pigs: a role for peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARγ) *J Exper Biol* 2013; 216, 1085-1092.

[49] Aitken R, Kelly R. Analysis of the direct effects of prostaglandins on human sperm function. *J Reprod Fertil* 1985; 73, 139-146.

[50] Aitken R, Irvine S and Kelly R. Significance of intracellular calcium and cyclic adenosine 3',5'-monophosphate in the mechanisms by which prostaglandins influence human sperm function. *J Reprod Fertil* 1986; 77, 451-462.

[51] Bendvold E, Gottlieb C, Svanborg K, Bygdeman M, Eneroth P. Concentration of prostaglandins in seminal fluid of fertile men. *Int J Androl* 1987; 10: 463-946.

[52] Mckee T, Mckee J. 2009. Bioquímica las bases moleculares de la vida: Metabolismo de los carbohidratos. Cuarta edición. Editorial Mc Graw Hill. México DF. pp 290-292.

[53] Domínguez A. Estudio del estrés oxidativo en espermatozoides epididimarios criopreservados de ciervo (*Cervus elaphus*). Tesis Doctoral. Universidad de Castilla-La Mancha Instituto de Investigación en Recursos Cinegéticos. Departamento de Ciencia y Tecnología Agroforestal y Genética. 2010.

[54] Suhaiman L, Giner F, Pelletán L, De Blas G, Mayorga, L Belmonte S. La actividad de esfingosina quinasa es requerida en una nueva vía de señalización que conduce a la exocitosis acrosomal del espermatozoide humano. 2010. XI Jornadas Virtuales de Investigación de la Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo. 2010; Cuyo, Argentina

[55] Castillo J, Mancifesta F, Mayorga L. Calcineurina es necesaria para la exocitosis acrosomal en espermatozoides humanos. XI Jornadas Virtuales de Investigación de la Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo. 2010; Cuyo, Argentina

[56] Soler O, Castillo J, Mayorga L. Caracterización de la interacción entre complexina y sinaptotagmina. XI Jornadas Virtuales de Investigación de la Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo. 2010; Cuyo, Argentina.

[57] Ramón M^a, Casis L. Múgica J. Estudio de la actividad minopeptidásica en espermatozoides astenozoospermicos. Tesis Doctoral. Facultad de Medicina y Odontología Departamento de Fisiología, Servicio Editorial de la Universidad del País Vasco Euskal Herriko Unibertsitateko Argitalpen Zerbitzua ISBN: 978-84-694-6815-9. Recuperado: 22-07-2014. http://www.ehu.es/argitalpenak/images/stories/tesis/Ciencias_de_la_Vida/Estudio%20de%20la%20actividad%20aminopeptidasica%20en%20espermatozoides%20astenozoospermicos.%20Comparacion%20clinica.pdf

[58] Töpfer-Petersen E, Wagner A, Friedrich J, Petrunkina A, Waberski D, Drommer W . Function of the mammalian oviductal sperm reservoir. J Exp Zool 2002; 292: 210–215.

[59] Travis A, Jorgez C, Merdiushev T, Jones B, Dess D, Diaz-Cueto L, Storey B, Kopf G, Moss S. Functional relationships between capacitation-dependent cell signaling and compartmentalized metabolic pathways in murine spermatozoa. J Biol Chem 2001; 276: 7630–7636.

[60] Jones A, Connor D. Control of glycolysis in mature boar spermatozoa: effect of pH in vitro. Reprod Fertil Dev. 2004; 16: 319–324.